

8/9/1

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2004 Thomson Derwent. All rts. reserv.

002274917

WPI Acc No: 1979-74127B/197941

Microbiological prepn. of coenzyme-Q-10 - using a microorganism of genus

Tilletiopsis or Exobasidium, opt. in presence of a defoaming agent

Patent Assignee: KANEGAFUCHI CHEM KK (KANF)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 54110388	A	19790829				197941 B
JP 81015234	B	19810409				198119

Priority Applications (No Type Date): JP 781741 A 19780110

Abstract (Basic): JP 54110388 A

Prepn. of coenzyme Q10 comprises cultivating a microorganism belonging to genus Tilletiopsis or Exobasidium and capable of producing

coenzyme Q10 in its fungus body (specifically, T. washingtonensis CBS

544.50, E. gracile IFO 7788) in a nutrient medium and recovering coenzyme Q10 from the produced fungus body.

Cultivation is pref. aerobically conducted by a liq. culture under

stirring at 20-40 degrees C, pref. 25-35 degrees C, and at a pH of 3.0-7.5, pref. 4.0-6.0, in either a batch system or in a continuous system. A defoaming agent, e.g., soybean oil, silicone resins,

fatty

acid deriv. defoaming agents, etc., may be added if necessary.

Title Terms: MICROBIOLOGICAL; PREPARATION; COENZYME-Q; MICROORGANISM; GENUS

; OPTION; PRESENCE; DEFOAM; AGENT

Index Terms/Additional Words: SILICONE; RESIN

Derwent Class: A97; B05; D16

International Patent Class (Additional): C12D-013/00; C12P-007/66; C12R-001/64

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): A12-W11B; B04-B02C1; D05-C03

Plasdoc Codes (KS): 0231 1306 2662 2733

Polymer Fragment Codes (PF):

001 011 04- 05- 229 38- 597 603 623 624 721

Chemical Fragment Codes (M1):

01 V800 G100 M531 L951 H541 H542 H711 H722 H723 M240 M232 M233 M331 M333 N130 M510 M520 M540 M720 M414 M902

Chemical Fragment Codes (M2):

02 K0 H5 H7 M282 M210 M211 M226 M231 M232 M240 M270 M311 M316 M320 G100

M531 L951 H541 H542 H711 H722 H723 N130 M510 M520 M540 M720 M414 M902

?

⑨日本国特許庁(JP)

⑩特許出願公開

⑫公開特許公報(A)

昭54—110388

⑪Int. Cl.²
C 12 D 13/00

識別記号 ⑬日本分類
1 1 2 36(2) D 32

庁内整理番号 ⑭公開 昭和54年(1979)8月29日
6760—4B

発明の数 1
審査請求 有

(全 8 頁)

⑭微生物による補酵素Q₁₀の製造法

—404

⑯特 願 昭53—1741
⑰出 願 昭53(1978)1月10日
⑱発 明 者 川原田肇
加古川市平岡町新在家2183の4
同 三輪俊明
神戸市垂水区学が丘2—1, 426

⑲発 明 者 藤本高己
兵庫県加東郡社町貝原252
同 渡辺清
明石市松ヶ丘5丁目15の41
⑳出 願 人 鐘淵化学工業株式会社
大阪市北区中之島三丁目3番地
㉑代 理 人 弁理士 浅野真一

明 細 書

1. 発明の名称

微生物による補酵素Q₁₀の製造法

2. 特許請求の範囲

1. テイレチイオブシス属、エクソバシテイウム属の何れかに属し、かつ菌体内に補酵素Q₁₀の蓄積生産能を有する微生物を、栄養培地で培養し生成された菌体から補酵素Q₁₀を採取することを特徴とする補酵素Q₁₀の製造法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、微生物による補酵素Q₁₀の製造法に関するものである。

補酵素Qは、生物の末端電子伝達系に参与する生理的に重要なキノン誘導体で、2, 8—ジメトキシ—5—メチル—1, 4—ベンゾキノンの6位にイソプレノイド側鎖を有し、側鎖のイソプレノイド基の数により補酵素Q₆～補酵素Q₁₀の各種の同族体がある。人間等の高等動

物は殆んど補酵素Q₁₀を有することから、医薬品として最も価値の高いものは補酵素Q₁₀であるとされており、補酵素Q₁₀は既にうつ血性心不全の治療薬として生産販売され、更に将来高血圧、歯そくのうろう等の治療薬としての用途も期待されている。

現在行なわれている補酵素Q₁₀の工業的生産は、タバコの葉等の植物から補酵素Q₁₀の前駆体を抽出し、抽出物から化学的合成法によつて補酵素Q₁₀を製造する半合成法によるもので、この方法は資源的な制約があること、工程が複雑であること、異性体の生成の問題がある等の欠点を有するため、これらの問題を一挙に解決し得るより優れた方法として微生物による生産の開発が望まれてきた。

補酵素Q₁₀を含有する微生物としては、今迄にシュードモナス属、ロードトルラ属、クリプトコッカス属、キャンディダ属、トルロプシス属、トレモラ属、オーレオバシディウム属等が知られている。本発明者らは、多くの微生

物にわたって補酵素Q₁₀を生産する菌を検索した結果、ティレテイオブシス(*Tilletiopsis*)属、エクソバシディウム(*Exobasidium*)属に属する微生物が著量の補酵素Q₁₀を生産することを見出し、本発明を完成した。

本発明に使用される微生物は、ティレテイオブシス属、エクソバシディウム属の何れかに属し、かつ補酵素Q₁₀の蓄積生産能を有する微生物ならばどのようなものでもよいが、例として、ティレテイオブシス・ワシントンシス(*Tilletiopsis washingtonensis*) CBS 544.50、エクソバシディウム・グラチル(*Exobasidium gracile*) IFO 7788があげられる。

本発明に使用される炭素源は、使用される微生物が利用し得るものなら何でもよいが、例えば糖蜜、グルコース、でんぷん等の糖類、酢酸、プロピオン酸、フマル酸、クエン酸等の有機酸類、エタノール、イソプロパノール等のアルコール類、バーム油、大豆油等の油脂類、ある

- 3 -

ら分離した菌体を、ピロガロールの存在下にメタノール性アルカリでケン化を行ない、ケン化液からヘキサン、クロロホルム等の有機溶剤に転溶させる通常の方法の他に、菌体の水懸濁液を酸、アルカリ処理後疎水性溶剤で液々抽出する方法(特願51-110485)によつても行なわれる。その後の精製は、シリカゲル、アルミナ、フロリジル等を使用する吸着クロマトグラフィーあるいは薄層クロマトグラフィー、向流分配法等によつて行なわれる。

次に本発明につき、実施例をあげて説明する。

実施例1

グルコース40g、リン酸1カリウム4g、硫酸5g、硫酸マグネシウム・7H₂O 0.6g、硫酸亜鉛・7H₂O 10mg、硫酸第1鉄・7H₂O 100mg、酵母エキス1g、水道水1ℓからなる培地(PH5.0に調整)16ℓを80ℓ容量フラスコに入れ、同一組成の培地に予めフラスコ培養したティレテイオブシス・ワシントン

- 5 -

いは高級脂肪酸等が使用され、この場合単体、混合物の何れでもかまわない。窒素源としては、硫酸、塩安のようなアンモニウム塩、尿素、アミノ酸、あるいはその混合物等が使用され、その他無機塩としてカリウム塩、マグネシウム塩、リン酸塩、亜鉛塩、鉄塩、マンガン塩、例えば塩化カリ、硫酸マグネシウム、リン酸1カリウム、硫酸亜鉛、硫酸マンガン等が使用される。微量培養素としては、必要に応じてビタミン類あるいはこれらを含む酵母エキス、酪密、コーンステープリカー等を添加してもよい。

培養は通気攪拌液体培養によつて行ない、その場合、バッチ式、連続式培養の何れでもよい。培養温度は20~40℃で行ない得るが、特に25~35℃が望ましく、PHは8.0~7.5で行ない得るが、特に4.0~6.0が望ましい。又、培養の状態によつては適宜消泡剤、例えば大豆油、シリコン系樹脂、脂肪酸誘導体系消泡剤を添加する。

菌体からの補酵素Q₁₀の抽出は、培養液か

- 4 -

ンシス CBS 544.50 の培養液2ℓを接種し、攪拌数700rpm、通気量1v.v.m.、温度30℃の条件で通気攪拌培養を行なった。PHの変動に対しては、アンモニア又は塩酸の添加によつてPH5.0に保つた。

12時間の培養後、遠心分離によつて菌体を集め、湿菌体2010g(乾燥重量863g)を得た。菌体を8.8ℓのメタノールに懸濁し、60%苛性ソーダ985ml、ピロガロール190gを添加してケン化し、ケン化液に水14ℓを加え、その液と等容のn-ヘキサンで3回抽出し、n-ヘキサン層を水洗、脱水後濃縮した。濃縮物を少量のn-ヘキサンの溶解し、冷却によつて析出するステロール類を除去した後、シリカゲルカラムにかけ、n-ヘキサン・エチルエーテル(19:1)で溶出した。補酵素Q₁₀含有固分を合併し、減圧下に乾固した後、少量のエタノールに溶解し、5℃に放置すると橙黄色の結晶105mgが得られた。本結晶は融点、ペーパークロマトグラフィー、UVスペクトル、IRス

- 6 -

ベクトル、マススペクトルにより補酵素Q₁₀と
同定された。

実施例 2

エクソパシデウム・グラチル JFO 7788
を使用し、実施例 1 と同様の方法で培養し、湿菌
体 1980g (乾燥重量 855g) を得た。実施例 1
と同様の方法で補酵素 Q を抽出精製し、結晶 91
mg を得た。

本結晶は実施例 1 と同一の方法で補酵素 Q₁₀と
同定された。

特許出願人 鐘淵化学工業株式会社

代 理 人 弁 理 士 浅 野 真 一